

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-334698

(43)公開日 平成8年(1996)12月17日

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>  
G 0 2 B 21/00

識別記号 庁内整理番号

F I  
G 0 2 B 21/00

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 4 頁)

(21)出願番号 特願平7-142189

(22)出願日 平成7年(1995)6月8日

(71)出願人 000004112

株式会社ニコン

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(72)発明者 安達 晃

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内

(72)発明者 黒岩 義典

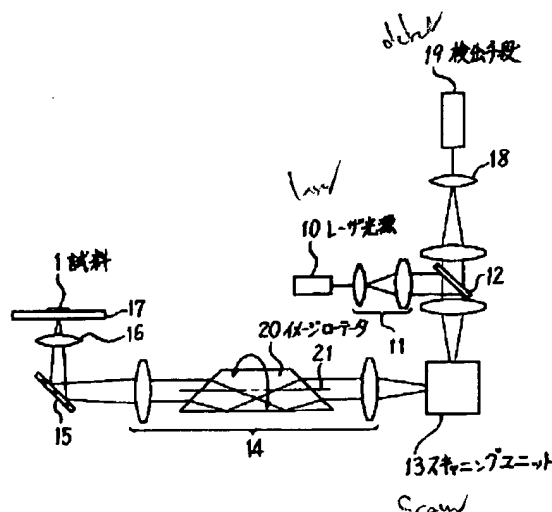
東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内

(54)【発明の名称】 光走査型顕微鏡

(57)【要約】

【目的】 試料の方向と走査方向を容易かつ短時間で一致させることができる光走査型顕微鏡を提供する。

【構成】 光源10からの光を試料1に対して走査させるスキャニングユニット13と、試料1からの光を検出する検出手段19とを備えた光走査型顕微鏡において、スキャニングユニット13から試料1に至る光路中に、試料1に対する走査方向を回転させる回転手段20を設ける。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 光源からの光を試料に対して走査させるスキャニングユニットと、試料からの光を検出する検出手段とを備えた光走査型顕微鏡において、前記スキャニングユニットから前記試料に至る光路中に、前記試料に対する走査方向を回転させる回転手段を設けたことを特徴とする、光走査型顕微鏡。

【請求項2】 前記スキャニングユニットは、走査範囲を縮小することによって画像を作り出す時間を短縮させるバンドスキャンが可能なるものである、請求項1に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項3】 前記回転手段は、前記光路の光軸を中心に回転可能に設けられたイメージローテータである、請求項1または2に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項4】 前記回転手段は、前記光路の光軸を中心に回転可能に設けられた複数枚のミラー群で構成される、請求項1に記載の光走査型顕微鏡。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、光走査型顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】一般に光走査型顕微鏡は、光源からの光を試料に対して走査させるスキャニングユニットと、試料からの光を検出する検出手段とを備えた構成になっている。この光走査型顕微鏡において、例えば細胞などの高速の動きを見たい場合などには、時間分解能を向上させるために、走査線数を減らして画像を作り出す時間を短縮させる、いわゆるバンドスキャンが従来より行われている。

【0003】図3は、比較的偏平した形状の試料1をステージ上の走査方向Xに対して斜めに置いた状態の画像を示しており、幅L1は光走査型顕微鏡においてバンドスキャンを行わずにフルスキャンさせたときの走査幅を示し、幅L2はバンドスキャンさせたときの走査幅を示している。バンドスキャンを行って走査幅をL2と狭めることにより、一画像を作り出すのに必要な時間はL2/L1に短縮し、試料1の細胞2の高速の動きなどを見ることができるようになる。

【0004】ところが、図示のように試料1がステージ上の走査方向Xに対して斜めに置かれている場合にバンドスキャンを行うと、走査されない範囲における細胞2'の様子を見ることはできない。そこで従来、このように試料1が走査方向Xに対して斜めに置かれている場合には、試料1の長手方向を走査方向Xに一致させるべく、顕微鏡のステージに設けられている蛇の目リングを回転させて試料1の方向を調整する方法、あるいは、回転ステージを用いて直接試料1を回転させる方法が採用されている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】細胞などの試料を観察するような場合は、ステージには、試料に電気刺激等を与えるための刺激装置や、試料の温度等の状態を一定に保つためのチャンバ、このチャンバに保温水を供給するシリコンチューブなどといった種々の機器が一体的に取り付けられることが多い。このような場合は、ステージ上に置かれている試料を簡単には動かすことができず、実質的に試料を回転させることは不可能であり、バンドスキャンの走査範囲内に試料を納めることができない。

【0006】また、蛇の目リングや回転ステージの回転中心が、正確には視野中心と一致していないことが多い。このため、特に高倍率で観察を行っている場合に蛇の目リングや回転ステージを回転させた場合に、試料が視野範囲から消えてしまうといった問題がある。試料が視野範囲から消えた場合は、試料を探し出して再び視野範囲に位置させなければならないが、試料を探し出す作業は時間がかかり、しかも、探している間中、試料に余計な光（励起光）を当てることになるので、試料にダメージを与えてしまう。

【0007】従って本発明の目的は、試料の方向と走査方向を容易かつ短時間で一致させることができる光走査型顕微鏡を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明は、光源からの光を試料に対して走査させるスキャニングユニットと、試料からの光を検出する検出手段とを備えた光走査型顕微鏡において、前記スキャニングユニットから前記試料に至る光路中に、前記試料に対する走査方向を回転させる回転手段を設けたことを特徴とする。

【0009】この本発明の光走査型顕微鏡において、前記スキャニングユニットは、走査範囲を縮小することによって画像を作り出す時間を短縮させるバンドスキャンが可能なるものとして行うことができる。そして前記回転手段は、前記光路の光軸を中心に回転可能に設けられたイメージローテータ、もしくは複数枚のミラー群で構成することもできる。

【0010】

【作用】本発明の光走査型顕微鏡によれば、例えば先に図3で説明したように、ステージ上において試料が走査方向に対して斜めに置かれているような場合は、回転手段によって走査方向を回転させることにより、試料の方向と走査方向を一致させることができる。

【0011】

【実施例】以下、本発明の実施例を図面を参照しながら説明する。試料に対してレーザ光を照射し、試料から発せられた蛍光を観察する蛍光観察型の顕微鏡について説明する。図1は、本発明の第一実施例にかかる光走査型顕微鏡の光路図である。レーザ光源10から出射されたレーザ光は、導入光学系11内のダイクロイックミラー

50 12で反射して、スキャニングユニット13に導入され

る。スキャニングユニット13は、例えばガルバノスキャナを二つ備え、レーザ光源10からスキャニングユニット13に導入されたレーザ光を二次元に走査させる。このようにスキャニングユニット13によって走査されたレーザ光はリレー光路14、ミラー15、および対物レンズ16を介して、ステージ17上の試料1に照射される。また、試料1からの蛍光は、対物レンズ16、ミラー15、リレー光路14、およびスキャニングユニット13を介し、導入光学系11内のダイクロイックミラー12を透過した後、結像レンズ18を通して、例えば

10 フォトマルチプライヤ、CCDカメラなどの検出手段19に導入される。  
【0012】以上のような光走査型顕微鏡において、スキャニングユニット13から試料1に至るリレー光路14中に、試料1に対する走査方向を回転させる回転手段としてのイメージローテータ20が設けられている。イメージローテータ20は、例えばダブプリズムで構成される。また、図示はしないが、このイメージローテータ20を光軸21を中心にして回転させる駆動手段を備える。駆動手段は手動でも良いが、ステッピングモータなどを備えた電動の駆動手段でも良い。その駆動手段の稼働によってイメージローテータ20が光軸21を中心に $\theta^\circ$ 回転すると、前記スキャニングユニット13によって走査されたレーザ光に、その2倍の回転角 $2\theta^\circ$ が与えられ、これにより、試料1に対する走査方向は $2\theta^\circ$ 回転する。

【0013】さて、この実施例の光走査型顕微鏡において、レーザ光源10から出射されたレーザ光は、スキャニングユニット13によって走査され、試料1に照射される。そして、試料1からの蛍光は、デスキャニング後、ピンホールを通過して検出手段19で検出される。ここで、ステージ17上の試料1が走査方向Xに対して斜めに置かれている場合は、検出手段19で検出された画像は、図3に示すようになる。このように試料1の長手方向と走査方向Xが一致していない状態でバンドスキャンを行って走査幅をL2に狭めると、バンドスキャンからはみ出た走査されない範囲における細胞2'の様子は見ることはできない。

【0014】そこで、このように試料1と走査方向Xが一致していない場合は、イメージローテータ20を光軸21を中心にして回転させてスキャニングユニット13の走査方向を適宜変え、試料1の長手方向に一致させる。図3にも示されるように、通常は、試料1は画像の中央、即ち視野中心の近傍に映るようにステージ17上で位置決めされているので、このようにスキャニングユニット13の走査方向を変えると、それに伴って試料1は画像の中央近傍に映ったまま回転する。こうして、画像を見ながらイメージローテータ20の回転量を適当なものとすることによって、検出手段19で検出される画像は、図4に示すように、試料1が中央に位置し、かつ、試料

1の長手方向と走査方向X'とが一致したものとなる。なお、イメージローテータ20の回転角度と走査方向の回転角度は、1:2の関係にあるので、具体的には、試料1の長手方向と走査方向に生じている角度のずれの半分の角度にイメージローテータ20の回転量を調整すればよいことになる。これにより、試料1の全体を幅L2の範囲内に納めることが可能となり、バンドスキャンを行った場合に、試料1の全体を走査することができ、細胞2の高速の動きなどを良好に見ることが可能となる。

10 【0015】この実施例の光走査型顕微鏡によれば、イメージローテータ20を適宜回転させることによって、スキャニングユニット13の走査方向を試料1の長手方向に一致させることができ、試料1は回転させる必要がない。従って、ステージに刺激装置や保温チャンバなどが取り付けられているような場合であっても、何等支障無く走査方向を任意の角度に自由に調整できる。また、通常は、試料1の中心は画像の中央に一致しており、このようにスキャニングユニット13の走査方向を変えても試料1は画像の中央近傍に映ったまま回転するので、図4に示すような画像が、イメージローテータ20の回転量を画像を見ながら調整するだけで容易に得ることができる。

20 【0016】次に図2は、本発明の第二実施例にかかる光走査型顕微鏡の光路図である。先に図1において説明した第一実施例が、試料1に対する走査方向を回転させる回転手段としてイメージローテータ20を用いたのに対して、この第二実施例では、試料1に対する走査方向を回転させる回転手段を複数枚のミラー群で構成した点相違している。但し、回転手段を除けば、第一実施例と第二実施例の構成は同様であるので、図2において図1と同じ構成要素には図1と同じ符号を付することにより、説明は省略する。

30 【0017】この第二実施例では、回転手段は何れも全反射型の三枚のミラー25、26、27で構成される。これらミラー25、26、27は、スキャニングユニット13からミラー15に至るリレー光路14中において光軸21を中心にして一体的に回転する構成になっている。先の第一実施例と同様に、図示はしないが、これらミラー25、26、27を光軸21を中心にして一体的に回転させる駆動手段を備える。駆動手段は手動でも良く、また、ステッピングモータなどを備えた電動の駆動手段でも良い。これら三枚のミラー25、26、27を光軸21を中心にして回転させることによって、スキャニングユニット13による走査方向に回転角度を与えることができる。この第二実施例の光走査型顕微鏡によっても、先に説明した第一実施例の光走査型顕微鏡の場合と同様に、ミラー25、26、27を一体的に回転させることによって、スキャニングユニット13の走査方向を試料1の長手方向に一致させることができ、図4に示すような画像を容易に得ることができる。

5

【0018】しかも、第二実施例のように回転手段をミラー群で構成すると、試料1に照射されるレーザ光（励起光）と、試料1から発生された蛍光とが、波長の違いによる光路差を生じることが無く、検出手段19で得た画像が鮮明になるといった特徴がある。なお、ミラー群の回転角度と走査方向の回転角度の関係は、ミラーの枚数によって異なったものとなる。

【0019】

【発明の効果】本発明によれば、スキャニングユニットの走査方向と試料の方向を、ステージや試料を回転させ

【図面の簡単な説明】

6

【図1】本発明の第一実施例にかかる光走査型顕微鏡の光路図である。

【図2】本発明の第二実施例にかかる光走査型顕微鏡の光路図である。

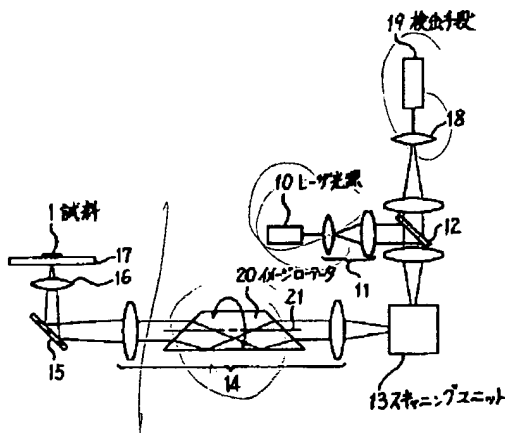
【図3】操作方向を回転させる前の状態における試料の画像である。

【図4】操作方向を回転させた後の状態における試料の画像である。

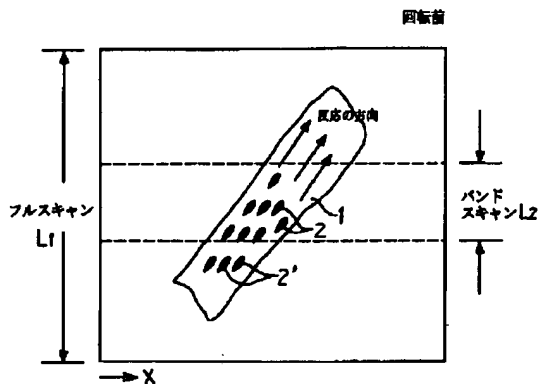
【符号の説明】

- 1 試料  
10 光源  
13 スキャニングユニット  
20 イメージローテータ  
21 光軸  
25、26、27 ミラー

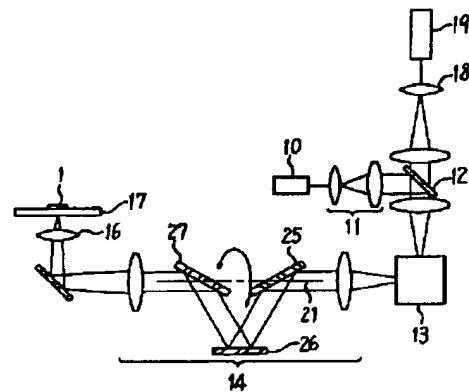
【図1】



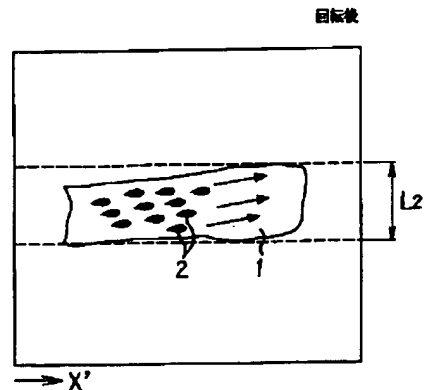
【図3】



【図2】



【図4】



DERWENT-ACC-NO: 1997-096639  
DERWENT-WEEK: 199709  
COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Optical scanning type microscope for cell - in  
which image rotator  
provided in optical path between scanning unit and sample  
rotates scanning  
direction of scanning unit according to sample position

PATENT-ASSIGNEE: NIKON CORP[NIKR]

PRIORITY-DATA: 1995JP-0142189 (June 8, 1995)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE
PAGES	MAIN-IPC	
JP 08334698 A	December 17, 1996	N/A
004	G02B 021/00	

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO
APPL-DATE		
JP08334698A	N/A	1995JP-0142189
June 8, 1995		

INT-CL (IPC): G02B021/00

ABSTRACTED-PUB-NO: JP08334698A

BASIC-ABSTRACT: The microscope has a scanning unit (13)  
which scans a sample  
(1) using light from a light source (10). A detector (19)  
detects the light  
from the sample. An image rotator (20) is provided in an  
optical path between  
the scanning unit and the sample.

The image rotator rotates the scanning direction of the  
scanning unit,  
according to the sample position.

ADVANTAGE - Enables to match scanning direction with sample  
position. Improves  
time resolution. Shortens image formation time.  
Simplifies operation

extremely. Reduces number of scanning lines.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.1/4

TITLE-TERMS:

OPTICAL SCAN TYPE MICROSCOPE CELL IMAGE ROTATING OPTICAL  
PATH SCAN UNIT SAMPLE

ROTATING SCAN DIRECTION SCAN UNIT ACCORD SAMPLE POSITION

DERWENT-CLASS: P81 S02 S03 V07

EPI-CODES: S02-J04B1; S03-E04R; V07-K05;

SECONDARY-ACC-NO:

Non-CPI Secondary Accession Numbers: N1997-080071